

ヒト肝薬物代謝酵素チトクローム P450 (CYP) 3A 活性の 新規評価法としてのプロトンポンプ阻害薬ランソプラゾールの有用性

やなぎだ ようへい たけば ゆうこ くまい としお わたなべ みのる
柳 田 洋平 武半 優子 熊井 俊夫 渡辺 実
まつもと なおき はやし みきひと こばやし しんいち
松本 直樹 林 幹人 小林 真一

(受付:平成20年8月20日)

抄 録

多くの薬物代謝に関与するチトクローム P450 (CYP) の 3A 活性は、個体差が報告されている。この個体差が薬物の効果または副作用に影響することから、患者個人の CYP3A 活性を知ることが薬物治療を行う上で重要である。本研究ではプロトンポンプ阻害薬ランソプラゾールが、CYP3A を介してランソプラゾールスルホン (LS) に代謝される経路に注目し、LS 濃度を測定することでヒト CYP3A 活性能を評価できるかを検討した。10 人の健常人にランソプラゾール 30 mg を内服させ、内服後 1, 2, 3, 5, 8 そして 24 時間目に採血した。それぞれ採取した血漿中から、ランソプラゾールの代謝産物である LS 濃度を high-performance liquid chromatography (HPLC) で測定した。ランソプラゾールのもう一つの代謝経路である CYP2C19 より代謝される 5-ヒドロキシランソプラゾール (5-OH) の濃度も同時に測定した。さらに、以前から CYP3A 活性の評価法として用いられている 6 β ヒドロキシコルチゾール (6 β -OHC) 値と LS 値の相関を検討した。LS の血漿薬物濃度曲線下面積 (AUC)_{0-24h} は平均 129.9 \pm 119.2 ng \times h/ml で、それぞれの値に個人差が見られた。LS と 5-OH の AUC_{0-24h} に有意な相関はなく、ランソプラゾールの CYP3A の代謝が CYP2C19 に依存していないことが示唆された。また、血中 6 β -OHC 値と LS 値は有意な正の相関を示した。

以上より、CYP3A 活性能は、LS 濃度に反映されていることが示唆された。ランソプラゾールは *in vivo* でヒト CYP3A の活性能を簡便かつ的確に評価する指標薬物となりえる可能性があることが示唆された。

索引用語

チトクローム P450 (CYP) 3A, ランソプラゾール, ランソプラゾールスルホン, 6 β -ヒドロキシコルチゾール

緒 言

ヒトの薬物代謝酵素のチトクローム P450 (cytochrome P450: CYP) には様々な分子種が存在し、多くの薬物代謝に関与している。その分子種のうち

CYP3A はヒト肝臓のミクロソームで最も多く発現し、CYP 全体の約 30% を占める¹⁾²⁾。CYP3A はパクリタキセルやイリノテカンなどの抗癌薬をはじめ高血圧治療薬、抗菌薬など臨床的に使用されている薬物の約 50% 以上の代謝に関与している³⁾⁶⁾。しかし CYP3A 活性には個体差があり、その活性の差は 20 倍-50 倍あることが報告されている⁷⁾。したがっ

て CYP3A 活性の個体差が薬物の代謝能に影響すると、薬理効果や副作用に個人差が生じることが予想され⁸⁾、薬物治療を行う患者において各個人の CYP3A 活性を知ることは薬物投与量の設定および副作用発現の危険性を予測するうえで重要であると考えられる。現在、CYP3A 活性を測定する代表的な指標薬物として、エリスロマイシン、ミダゾラム、テストステロンおよびコルチゾールが挙げられる⁹⁾¹⁰⁾。これらの薬物を用いた手法により CYP3A 活性を特異的に反映することが可能であるが、エリスロマイシン使用時のアイソトープラベルによる被爆、テストステロン使用時による内在性テストステロンの存在およびミダゾラム使用時の睡眠作用などの問題点が挙げられる。そこで我々は CYP3A 活性を正確、簡便に測定でき、患者に使用しても安全な指標薬物が必要であると考え、プロトンポンプ阻害薬 (proton pump inhibitor: PPI) のランソプラゾールに注目した。

PPI は、胃の壁細胞に局在する $H^+/K^+-ATPase$ を阻害することで、胃酸の分泌を抑制する薬物である。抗生物質のアモキシシリンやクラリスロマイシンを併用することで胃潰瘍の原因である *Helicobacter pylori* の除菌に効果を示す¹¹⁾。PPI はランソプラゾールの他にオメプラゾール、ラベプラゾールがあるが、それぞれ肝臓での薬物代謝経路が異なっている。ランソプラゾールは肝臓の CYP3A と CYP2C19 を介して代謝されることが特徴である。主要な血漿中の代謝産物は CYP2C19 を介する 5-ヒドロキシランソプラゾールと、CYP3A によって生成されるランソプラゾールスルホンである¹²⁾ (Fig. 1)。Masa *et al* はランソプラゾールの肝臓における CYP3A の代謝が CYP2C19 による代謝経路と独立していると報告している¹³⁾。また、ランソプラゾールは服用による重篤な副作用の可能性も少ない薬物で、患者が服用しても比較的安全である。しかし、ランソプラゾールスルホンへの代謝が CYP2C19 の影響なく、CYP3A 活性能を評価できるか *in vivo* で示した報告はまだない。そこで本研究は、健常人にランソプラゾールを経口投与し、ランソプラゾールスルホン (Lansoprazole sulfone; LS) の血中濃度を測定することによって、CYP3A 活性能を評価できるか検討した。

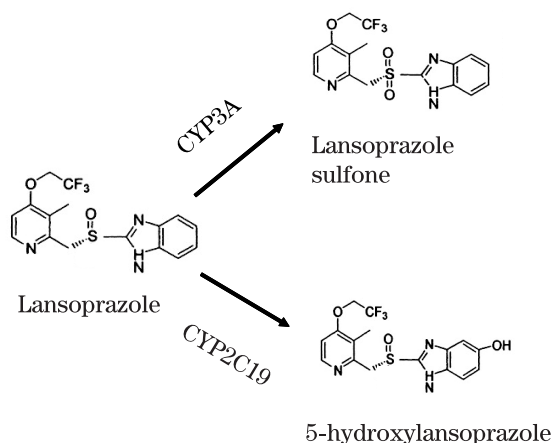


Fig. 1. The metabolism pathway of lansoprazole. Lansoprazole is metabolized to lansoprazole sulfone by CYP3A and to 5-hydroxylansoprazole by CYP2C19.

材料および方法

臨床試験プロトコール

本研究の意図を文書と口頭で説明し文書で同意を得た健常人 10 名に施行した。対象被検者は、すべて非喫煙者で薬物服用のない健常成人である。年齢は 39.2 ± 10.3 歳で、体重は 59.9 ± 9.7 kg、性別は男性 7 例、女性 3 例であった。すべての被検者は朝から絶食とし、前腕静脈内に採血用の留置針を留置し、薬物投与前の採血を行った。さらにランソプラゾール(タケプロン[®], 武田薬品工業, 大阪) 30 mg を服用後、1, 2, 3, 5, 8 そして 24 時間目に 5 ml の採血を行った。各時点で採取した血液は遠心し血漿を分離し、 $-20^{\circ}C$ で一時保存後、血漿中のランソプラゾールスルホン (lansoprazol sulfone; LS) および 5-ヒドロキシランソプラゾール (5-hydroxylansoprazol; 5-OH) 濃度を測定した。なお本研究は、聖マリアンナ医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究の審査委員会の承認を受けて施行した (No. 1214)。

血中 LS および 5-OH 濃度の測定

ヒト血漿中のランソプラゾールの代謝産物 LS と 5-OH の測定は、Miura *et al* の報告に基づき high-performance liquid chromatography (HPLC) を用いて測定した¹⁴⁾。血漿中に内部標準物質であるジアゼパム 3.5 mM を加え、Oasis HBL extraction cartridges (Waters, Milford, MA, USA) に抽入した。カートリッジに滅菌二次純水 1 ml, 40%メタノー

ルを順次抽出し、最後に 80%メタノールで抽出した。抽出液は、乾燥状態になるまで 60°C で 1 時間蒸留した。残留物は、100%メタノール 180 ml および移動層 (0.2 M NaClO₄-アセトニトリル-メタノール, 55: 23: 22) に溶解して試料とし HPLC (Tosoh Co., Tokyo, Japan) で分離定量した。分離用のカラムは、キラル CD-Ph カラム (4.6 mm I. D. ×250 mm, 資生堂, 東京) を使用した。試料の流速は 30°C, 0.6 ml / min で測定波長は 285 nm で行った。検出した値をもとに薬物動態 (Pharmacokinetics; PK) パラメーター (C_{max} , $t_{1/2}$, t_{max} , Area under the plasma concentration; AUC_{0-24h}) を算出した。

血中 6 β -hydroxycortisol (6 β -OHC) 濃度の測定

朝、絶食時の健常人から採取した血漿試料を用いた。血漿 1.8 ml にデキサメサゾン を内部標準物質として 1.3 mM を加え、Oasis HBL extraction cartridge (Waters, Milford, MA, USA) に抽出した。その後、40%メタノールを順次カートリッジに注入後、80%エタノールをカートリッジに通し抽出した。抽出液は乾燥状態になるまで 60°C で 2 時間乾燥させた。残留物に 100%メタノールを加え混和した。この混和液に移動層 A (50 mM KH₂PO₄, 10 mM 酢酸水) と移動層 B (移動層 A: アセトニトリル = 35: 65) を 85: 15 の割合で混合した移動層 C を添加し混和した。分離用のカラムは、COSMOSIL Packed カラム (4.6 mm I. D. ×250 mm, ナカライテスク, 京都) を使用した。流量速度は 30°C で 40 分間, 1 ml / min の速度で行った。移動層は Lykkesfeldt *et al* の方法に準じ、0 分時, 移動層 A: 移動層 B=85: 15, 20 分時, 移動層 A: 移動層 B=18: 82, 22.5 分時, 移動層 A: 移動層 B=0: 100, 27.5 分時, 移動層 A: 移動層 B=0: 100, 30 分時, 移動層 A: 移動層 B=85: 15, 40 分時, 移動層 A: 移動層 B=85: 15 の濃度勾配で流した¹⁵⁾。MCPD-3600 UV Detector (Otsuka Electronics Co.) を用い、245 nm の波長で分析した。データの収集・分析は MCPD-3600 ver. 1.11 (Otsuka electronics Co., 大阪) を用いて行った。

統計解析

得られた結果は平均値±標準偏差で示した。統計解析は、StatView (ver. 4.58, Abacus, Berkeley, CA, USA). 各群パラメーターの相関は回帰分析で行

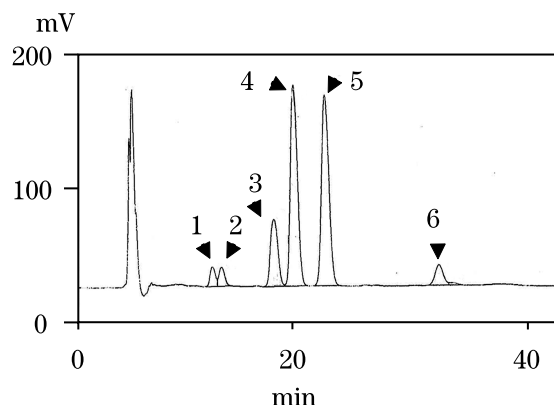


Fig. 2. The chromatogram of the high-performance liquid chromatography (HPLC) in lansoprazole and metabolites. Metabolites monitored at 245 nm with a UV detector. 1, (R)-5-OH; 2, (S)-5-OH; 3, LS; 4, (R)-lansoprazole; 5, (S)-lansoprazole; 6, diazepam. LS: lansoprazole sulfone; 5-OH: 5-hydroxylansoprazole.

い、有意水準 95%信頼限界をおき、危険率 5%未満を有意差とした。

結 果

LS 濃度

HPLC での測定結果を Figure 2 に示す。健常人 10 例の LS の血漿薬物濃度曲線下面積 (AUC)_{0-24h} は、129.9±119.2 ng×h/ml であり (Fig. 3, Table 1), 男性の AUC _{0-24h} が 121.7±78.6 ng×h/ml で女性の AUC _{0-24h} が 149.0±211.5 ng×h/ml となり、性差による有意な差は認めなかった。 AUC _{0-24h} の平均値より高い活性値を示したものは 10 検体中 6 例で、低い活性値を示したのは 4 例であった。個人差によるばらつきがみられ、一番高い値 391.6 ng×h/ml と一番低い値 3.5 ng×h/ml と比較すると 111.9 倍の差があった。最高血漿薬物濃度 (C_{max}) の平均は 15.8±10.3 ng/ml であり、最高血漿薬物濃度時間 (t_{max}) は 3.0±1.5 h であった。LS の半減期 ($t_{1/2}$) は 6.8±2.1 h であった。

5-OH 濃度

健常人 10 例の 5-OH の AUC _{0-24h} は 278.9±232.1 ng×h/ml であり (Fig. 4, Table 1), 男性の AUC _{0-24h} が 234.3±164.9 ng×h/ml で女性の AUC _{0-24h} が 382.9±371.2 ng×h/ml であり、性差による有意な差は認めなかった。 AUC _{0-24h} の平均値より高い活

Table 1. Pharmacokinetic Parameters of Lansoprazole Metabolites after Administration of 30 mg Lansoprazole

	LS	5-OH
C_{max} (ng/ml)	15.7±10.3	63.5±41.7
t_{max} (h)	3.0±1.5	2.8±1.3
$t_{1/2}$ (h)	6.8±2.1	2.8±2.4
AUC_{0-24h} (ng×h/ml)	129.9±119.2	278.9±232.1

LS: lansoprazole sulfone, 5-OH: 5-hydroxylansoprazole

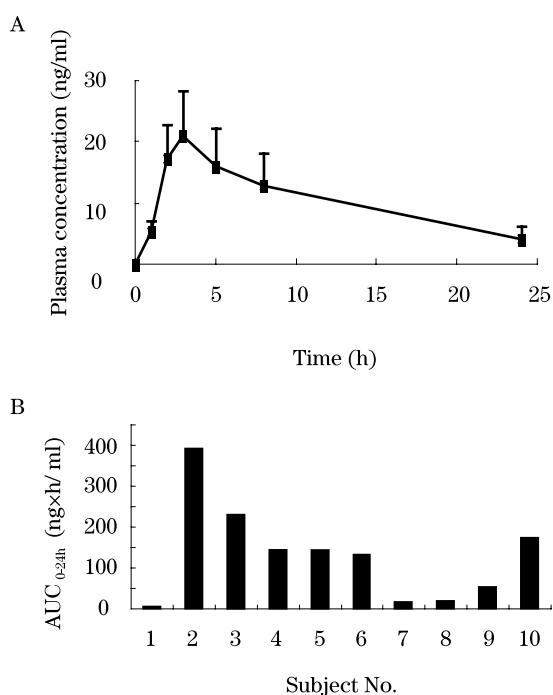


Fig. 3. (A) The mean plasma concentration of LS. (B) AUC_{0-24h} values of LS. Blood samples in ten healthy subjects were collected at 0, 1, 2, 3, 5, 8, and 24 h after drug administration as described in Material and Methods. The plasma concentration of LS was measured by HPLC. There was about a 110-fold difference between the highest and the lowest AUC_{0-24h} value of LS. AUC_{0-24h} : area under the curve from 0 h to 24 h.

性値を示したものは10検体中5例で、低い活性値を示したのは5例であった。LS同様個人差によるばらつきがみられ一番高い値 809.6 ng×h/ml と一番低い値 35.5 ng×h/ml と比較すると 22.8 倍の差があった。 C_{max} の平均は 63.5±41.7 ng/ml であり、 t_{max} は 2.8±1.3 h であった。LS の半減期 ($t_{1/2}$) は 2.8

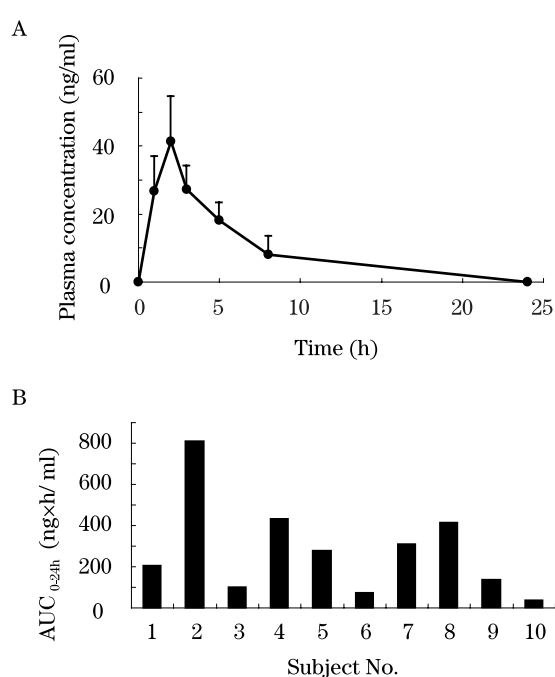


Fig. 4. (A) The mean plasma concentration of 5-OH. (B) AUC_{0-24h} values of 5-OH. Blood samples in ten healthy subjects were collected at 0, 1, 2, 3, 5, 8, and 24 h after drug administration. The plasma concentration of 5-OH was measured by HPLC as described in Material and Methods. There was about a 22-fold difference between the highest and the lowest AUC_{0-24h} value of 5-OH. The abbreviation is the same as in the legend described in Fig. 3.

±2.4 h であった。

LS 濃度と 5-OH 濃度の AUC_{0-24h} の相関

ランソプラゾールが CYP3A の代謝を受け生成された LS と CYP2C19 の代謝を受けて生成された 5-OH のそれぞれ 10 人の AUC_{0-24h} 値について相関を

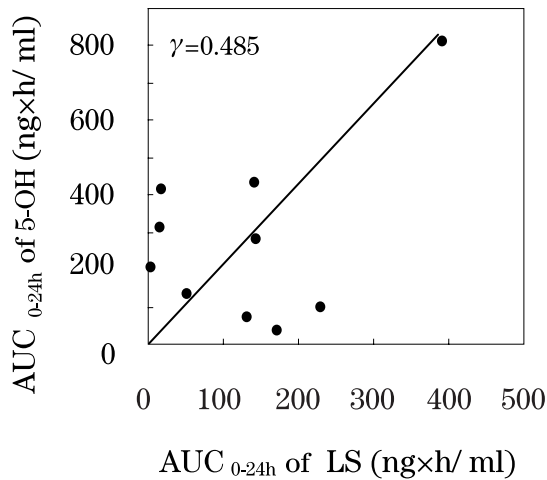


Fig. 5. Correlation of AUC_{0-24h} values between LS and 5-OH. AUC_{0-24h} values of LS were not correlated with the AUC_{0-24h} values of 5-OH ($r=0.485$). The LS and 5-OH plasma concentration of ten healthy subjects of 5-OH was measured by HPLC as described in Material and Methods. The abbreviation is the same as in the legend described in Fig. 3.

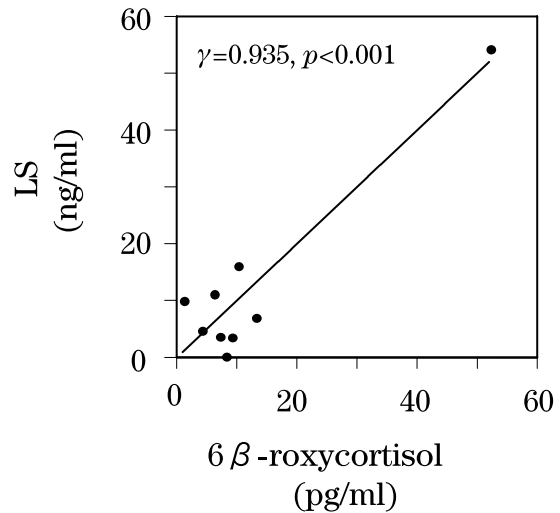


Fig. 7. Correlation of plasma concentrations between 6β -hydroxycortisol and LS at 2 h after intake. 6β -hydroxycortisol in nine healthy subjects were measured by HPLC as described in Material and Methods. LS concentrations at 2h after intake were significantly correlated with the 6β -hydroxycortisol concentrations ($r=0.966$, $P<0.001$). The abbreviation is the same as in the legend described to Fig. 3.

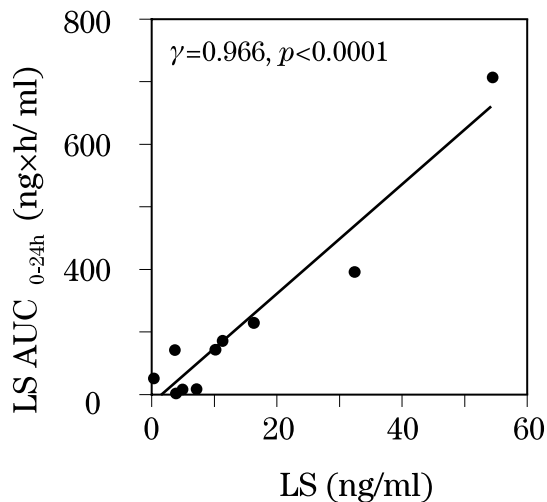


Fig. 6. Correlation between AUC_{0-24h} of LS and the plasma concentration of LS at 2 h after intake. The plasma concentration of LS in blood samples was measured by HPLC as described in Material and Methods. LS concentrations at 2h after intake were significantly correlated with the AUC_{0-24h} values of LS ($r=0.966$, $P<0.0001$). The abbreviation is the same as in the legend described in Fig. 3.

検討した。両群の値に有意な相関はなかった ($\gamma=0.458$) (Fig. 5)。

LS 濃度と 6β -OHC 値との相関

現在、ヒト CYP3A 活性能の評価法の一つとして用いられている血漿中の 6β -OHC 値を測定し、LS 値と比較検討した。LS の 2 時間値と LS の AUC_{0-24h} の相関を比較したところ有意な相関を示した ($\gamma=0.966$, $P<0.0001$) (Fig. 6)。そこで、LS の 2 時間値と 6β -OHC 値の相関を検討した。健康人 9 例の LS 値と 6β -OHC 値は、有意な正の相関がみられた ($\gamma=0.935$, $P<0.001$) (Fig. 7)。1 例は 6β -OHC が測定限界以下だった。

考 察

薬物に対する反応性には個体差が存在する。経口投与された薬物は全身の作用部位に行き着くまでに生体内で吸収、分布、代謝を経て薬物血中濃度に反映される。さらに、年齢、性別、人種などの生理的要因または肝機能低下や腎疾患など病態的要因が影響し、薬物の効果や副作用に個体差が生じることが

考えられる。薬物代謝酵素は薬物体内濃度を規定する主因子で、肝臓のミクロソームに含まれ10種類以上の分子種が存在する。その分子種は主に CYP3A で、現在、臨床で使用されている多くの薬物は CYP3A により酸化代謝を受ける。ヒト CYP3A の酵素活性は約 20-50 倍もの個体差があることが報告されている⁷⁾。そのことより薬物治療を行う患者においてその CYP3A 活性の個体差が薬物効果に影響することが予測される。とくに CYP3A で代謝される多くの抗癌薬は活性の個体差が、重篤な副作用の発現に影響することから、個人の CYP3A 活性を知ることはとても重要である。従って患者個人の CYP 活性を測定する簡便な手段が確立すれば個々の薬剤における代謝能が予測でき、代謝能にあわせて至適投与量の設定すなわちテーラーメイド医療の実現が可能になると思われる。本研究では、ヒト CYP3A 活性の個体差を、簡便且つ正確に測定する方法として、PPI のランソプラゾールが CYP3A を代謝経路に持つことに注目し、その代謝産物の血中動態を測定し、CYP3A の活性を評価できるかについて検討した。

現在、ヒト CYP3A4 活性を評価する方法は、一般的にいくつかの方法がある。1) erythromycin breath test, 2) ベンゾジアゼピン系睡眠薬のミダゾラム 1-水酸化酵素活性測定法, 3) テストステロン 6 β 水酸化酵素活性測定法, 4) 尿中コルチゾール代謝産物測定法などがある¹⁰⁾。Erythromycin breath test は ¹⁴C の放射性同位元素でラベルしたエリスロマイシンを静脈内に投与して呼気中 CO₂ を測定する方法である¹⁶⁾。この方法は信頼性の高い評価法であるが、被爆という問題点があり¹⁷⁾、ミダゾラムは睡眠作用が強く発現するため、患者への負担が大きく、投与は静脈内より注射で行うという問題点がある。ヒトでのテストステロン 6 β 水酸化酵素活性を測定することは、性差や患者個々による内因性テストステロンの存在が影響するため真の CYP3A 活性が評価できないという欠点がある。尿中コルチゾール代謝物の評価法は内因性コルチゾールが肝 CYP3A で代謝され 6 β -OHC として尿中に排泄されることを利用し測定する方法である。しかし酵素誘導や阻害研究など個体内変動の評価は可能であるが、体内コルチゾールの日内変動には個体によるばらつきがあるため個体差の評価は困難であると指摘されている^{15, 18)}。

そこで我々は、これらの問題を克服するための指標薬物として PPI に注目した。PPI は胃・十二指腸潰瘍や逆流性食道炎など様々な消化器疾患の治療に効果があり、患者が服用しても負担が少なく、また服用時の副作用も殆どないことが利点である¹⁹⁾。現在市販されているオメプラゾール、ランソプラゾール、ラベプラゾールなどの PPI は主に CYP2C19 と CYP3A で代謝される。オメプラゾールやラベプラゾールは、CYP2C19 の代謝が主体であり、ラベプラゾールは CYP2C19 の代謝前に非酵素的に代謝を受けるためにその経路は複雑である^{20, 21)}。ランソプラゾールは CYP2C19 を介して 5-OH に代謝され、また CYP3A を介して LS に代謝されるという 2 つの経路が確立している²¹⁾。ヒトにランソプラゾールを服用させ、血中の LS 濃度を測定することにより、*in vivo* で CYP3A の活性を評価できるのではないかという考えに基づき、本研究を行った。

今回 10 例の健常人において経時的に LS と 5-OH 濃度を測定し薬物動態パラメーターを求めた。LS の C_{max} の平均は 15.8 \pm 10.3 ng/ml であり、t_{max} は 3.0 \pm 1.5 h であった。また LS の t_{1/2} は 6.8 \pm 2.1 h であった。したがって LS の血中濃度は 2-3 時間でピークとなり、ほぼ 12 時間後には LS は代謝消失されることが明らかになった。LS の AUC_{0-24h} に性差による有意な差は認めなかったが、一番高い値 391.6 ng \times h/ml と一番低い値 3.5 ng \times h/ml と比較すると 111.9 倍の差があり、各個体で大きな差が認められた。5-OH も LS 同様、血中濃度は 2-3 時間でピークとなり、LS 同様 12 時間後には代謝消失されることが明らかになった。また個体差によるばらつきがみられ一番高い値 809.6 ng \times h/ml と一番低い値 35.5 ng \times h/ml と比較すると 22.8 倍の差があったが、性別による有意な差は認めなかった。CYP2C19 の個人差は、遺伝子多型の存在により通常の代謝能力をもつ extensive metabolizer と代謝の遅い poor metabolizer に分かれる²⁰⁾。また CYP2C19 は活性の個人差があることが報告されている²²⁾。今回測定した 10 人の被験者はすべて extensive metabolizer であることを確認しており、5-OH 値のばらつきは CYP2C19 活性の遺伝子多型に依存しない個人差であると考えられた。

本研究では、LS 濃度が *in vivo* で CYP2C19 の影響を受けずに CYP3A 活性を反映するかについて

も検討した。

ランソプラゾールの代謝は、CYP3A だけでなく CYP2C19 を介した経路も存在し、実際にランソプラゾールをヒトに投与すると CYP2C19 および CYP3A の両者の経路を経て代謝されることになる。Pearce *et al* はヒト肝ミクロソームでランソプラゾールから LS への代謝活性が CYP3A 活性と相関し、また 5-OH への代謝活性も CYP2C19 活性と相関することを示し、2つの代謝経路が独立していると報告している²³⁾。本研究でも、LS 濃度と同時に 5-OH 濃度を測定しその AUC_{0-24h} の相関を検討した。LS と 5-OH についてそれぞれの AUC_{0-24h} の値について相関を検討したところ、両群の値に有意な相関は認めなかった ($\gamma=0.458$)。つまりランソプラゾールの代謝が *in vivo* においても CYP3A の代謝と CYP2C19 の代謝が独立して行われたことが示唆された。

また LS 濃度が CYP3A 活性を反映していること明らかにするために、現在使用されている CYP3A の評価法と比較した。そこで内因性のコルチゾール代謝物を測定する評価法を選択した。従来、尿中コルチゾール代謝物を測定する方法が一般的に用いられてきたが、尿中のコルチゾール代謝物は日内変動があるため個人差を評価しにくい欠点があり、近年、日内変動が比較的少ないことや CYP3A 活性を尿中よりも反映する点で優れた血中のコルチゾール代謝物 6 β -OHC を測定する方法が開発された²⁴⁾。今回、その方法を用いて血中のコルチゾール代謝物を測定し LS 値と比較した。LS の薬物動態のパラメーターから LS の最高血中濃度が 3.0 \pm 1.5h であり、また LS の 2 時間値は LS の AUC_{0-24h} と有意な相関を示したことから、2 時間値の LS 濃度と 6 β -OHC 値を比較した。我々の結果から LS 値と 6 β -OHC 値は、有意な正の相関がみられた ($\gamma=0.935$, $P<0.001$)。従来の CYP3A 活性測定法は、感度が低いなどの欠点を有しつつも、一般的な方法として確立しており、その一つである 6 β -OHC と対比した結果、相関関係を認めた。したがってランソプラゾール服用 2 時間値は、CYP3A 活性を反映する新たな指標薬物となりうると思われた。またランソプラゾールの臨床用量で LS 濃度は十分検出が可能であり、かつ CYP3A の活性を反映している点で、評価法として有用性が高いと思われる。さらに LS 濃度が CYP3A 活性を反映していることが

示唆されることから、LS 濃度のばらつきは、CYP3A 活性の個体差を意味していることになり、Watanabe *et al* の CYP3A 活性に大きな個体差が存在するという報告と一致した²⁵⁾。CYP3A においても遺伝子多型の存在が報告されるようになってきたが、CYP3A 活性の個体差への影響は明らかになっていない²⁶⁾。しかし、ランソプラゾールによる CYP3A 活性の評価法が確立すれば、個体差の要因が明らかになるかもしれない。

以上より、今回ヒトに投与して血中の LS を十分測定できることを確認できた。そしてこの LS 濃度は CYP2C19 の代謝と独立したものであり、肝の CYP3A 活性を反映していることが示唆された。また以前から報告されている CYP3A 活性の個体差はかなり幅広いことも明らかになった。今後、ランソプラゾールは CYP3A 活性の簡便かつ正確で安全な評価系として、臨床的にも応用が可能となることが考えられた。さらに患者に対し負担をかけず、より簡便な測定法として採血ポイントを一回とするならば、投与後 2 時間で評価することが望ましいと考えられる。ランソプラゾールを CYP3A の指標薬物としてまたそのマーカーとしての LS はヒトの肝薬物代謝 CYP3A を評価する新たな測定法として利用可能であることが示唆された。

結 語

健康人にランソプラゾールを経口投与し、ランソプラゾールスルホン (Lansoplazole sulfone; LS) の血中濃度を測定することにより、CYP3A4 活性が評価できるか *in vivo* で検討した。LS の血中濃度は従来の CYP3A4 測定法である 6 β -OHC 値とよく相関した。またもう一つの代謝経路である CYP2C19 の代謝を受けずに CYP3A4 活性を反映していることが示唆された。したがって、ランソプラゾールは *in vivo* でヒト CYP3A の活性を簡便かつ的確に評価する指標薬物となりえる可能性があることが示唆された。

謝 辞

本研究を行うにあたり研究費の助成を賜りました財団法人臨床薬理研究振興財団に心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Li AP, Kaminski DL and Rasmussen A. Substrates of human hepatic cytochrome P450 3A4. *Toxicology* 1995; 104: 1-8.
- 2) Wacher VJ, Wu CY and Benet LZ. Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P 450 3 A and P-glycoprotein: implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Mol Carcinog* 1995; 13: 129-134.
- 3) Kostrubsky VE, Lewis LD, Strom SC, Wood SG, Schuetz EG, Schuetz JD, Sinclair PR, Wrighton SA and Sinclair JF. Induction of cytochrome P450 3A by taxol in primary cultures of human hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 1998; 355: 131-136.
- 4) Dodds HM, Haaz MC, Riou JF, Robert J and Rivory LP. Identification of a new metabolite of CPT-11 (irinotecan): pharmacological properties and activation to SN-38. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286: 578-583.
- 5) Wilkinson GR. Drug metabolism and variability among patients in drug response. *N Engl J Med* 2005; 352: 2211-2221.
- 6) Benet LZ, Kroetz DL and Sheiner LB. Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution, and elimination. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. McGraw-Hill, New York, USA 1996; 3-28.
- 7) Schellens JH, Soons PA and Breimer DD. Lack of bimodality in nifedipine plasma kinetics in a large population of healthy subjects. *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 2507-2510.
- 8) Bodmer M, Link B, Grignaschi N, Kummer O, Ruegg S, Haschke M and Krähenbühl S. Pharmacokinetics of Midazolam and Metabolites in a Patient With Refractory Status Epilepticus Treated With Extraordinary Doses of Midazolam. *Ther Drug Monit* 2008; 30: 120-124.
- 9) Kim JS, Nafziger AN, Tsunoda SM, Choo EE, Streetman DS, Kashuba AD, Kulawy RW, Beck DJ, Rocci ML Jr, Wilkinson GR, Greenblatt DJ and Bertino JS Jr. Limited sampling strategy to predict AUC of the CYP3A phenotyping probe midazolam in adults: application to various assay techniques. *J Clin Pharmacol* 2002; 42: 376-382.
- 10) Rais N, Chawla YK and Kohli KK. CYP3A phenotypes and genotypes in North Indians. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 417-422.
- 11) 福田能啓, 富田寿彦, 肥塚浩昌, 青山伸郎. プロトンポンプ阻害薬 (PPI) ランソプラゾール. *日本臨床* 2005; 11: 338-349.
- 12) Pichard L, Curi-Pedrosa R, Bonfils C, Jacqz-Aigrain E, Domergue J, Joyeux H, Cosme J, Guengerich FP and Maurel P. Oxidative metabolism of lansoprazole by human liver cytochromes P450. *Mol Pharmacol* 1995; 47: 410-418.
- 13) Masa K, Hamada A, Arimori K, Fujii J and Nakano M. Pharmacokinetic differences between lansoprazole enantiomers and contribution of cytochrome P450 isoforms to enantioselective metabolism of lansoprazole in dogs. *Biol Pharm Bull* 2001; 24: 274-277.
- 14) Miura M, Tada H, Yasui-Furukori N, Uno T, Sugawara K, Tateishi T and Suzuki T. Pharmacokinetic differences between the enantiomers of lansoprazole and its metabolite, 5-hydroxylansoprazole, in relation to CYP2C19 genotypes. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 60: 623-628.
- 15) Lykkesfeldt J, Loft S and Poulsen HE. Simultaneous determination of urinary free cortisol and 6 beta-hydroxycortisol by high-performance liquid chromatography to measure human CYP3A activity. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1994; 660: 23-29.
- 16) Watkins PB, Murray SA, Winkelman LG, Heuman DM, Wrighton SA and Guzelian PS. Erythromycin breath test as an assay of glucocorticoid-inducible liver cytochromes P-450. Studies in rats and patients. *J Clin Invest* 1989; 83: 688-697.
- 17) Lown KS, Thummel KE, Benedict PE, Shen

- DD, Turgeon DK, Berent S and Watkins PB. The erythromycin breath test predicts the clearance of midazolam. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57: 16–24.
- 18) Joellenbeck L, Qian Z and Zarba A, Groopman JD. Urinary 6 beta-hydroxycortisol/cortisol ratios measured by high-performance liquid chromatography for use as a biomarker for the human cytochrome P-450 3A4. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1992; 1: 567–572.
- 19) Blume H, Donath F, Warnke A and Schug BS. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors. *Drug Saf* 2006; 29: 769–784.
- 20) Shimizu M, Uno T, Yasui-Furukori N, Sugawara K and Tateishi T. Effects of CYP2C19 genotypes. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 597–603.
- 21) Böttiger Y. Use of omeprazole sulfone in a single plasma sample as a probe for CYP3A4. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 621–625.
- 22) Pearce RE, Rodrigues AD, Joyce A, Goldstein JA and Parkinson A. Identification of the human P450 enzymes involved in lansoprazole metabolism. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 277: 805–816.
- 23) Simada T, Yamazaki H, Miura M Inui Y and Guengerich P. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 414–423,
- 24) Hu Z, Gong Q, Hu X, Wang L, Cao Y, Cao W, Yu Q and Cheng Z. Simultaneous determination of 6beta-hydroxycortisol and cortisol in human urine and plasma by liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for phenotyping the CYP3A activity. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005; 826: 238–243.
- 25) Watanabe M, Kumai T, Matsumoto N, Tanaka M, Suzuki S, Satoh T and Kobayashi S. Expression of CYP3A4 mRNA is correlated with CYP3A4 protein level and metabolic activity in human liver. *J Pharmacol Sci* 2004; 94: 459–462.
- 26) Dai D, Tang J, Rose R, Hodgson E, Bienstock RJ, Mohrenweiser HW and Goldstein JA. Identification of variants of CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 299: 825–831.

Abstract

**Possibility of a Novel Assay for Human CYP3A activity
by Measuring Lansoprazole Metabolite *in Vivo*****Yohei Yanagida, Yuko Takeba, Toshio Kumai, Minoru Watanabe,
Naoki Matsumoto, Mikihiro Hayashi, and Sinichi Kobayashi.**

Cytochrome P450 (CYP) 3A is responsible for the metabolism of many drugs. The individual difference in CYP3A activity has been reported to contribute to metabolism of many drugs. The efficacies and adverse events are influenced by the interindividual difference of CYP3A activity. Therefore, it is very important to evaluate the CYP3A activity on drug therapy in individual patients. Lansoprazole, proton pump inhibitor, is metabolized to lansoprazole sulfone (LS) and 5-hydroxylansoprazole (5-OH) by CYP3A and CYP2C19 in the liver, respectively. In this study, we found the novel assay for human CYP3A activity useful by measuring plasma LS concentration after administration of lansoprazole *in vivo*. Ten healthy subjects were administered 30 mg lansoprazole and collected the blood samples at 1, 2, 3, 5, 8, and 24 h after intake. The plasma concentrations of LS, 5-OH, and 6 β -hydroxycortisol (6 β -OHC), a known marker for the CYP3A activity were analyzed using the high-performance liquid chromatographic (HPLC) apparatus. The area under the curve (AUC)_{0-24h} values of LS and 5-OH was observed having a wide variety of individual differences in ten healthy subjects, AUC_{0-24h} values of LS were not correlated with 5-OH. This result suggested that metabolism to LS by CYP3A occurred independently of that to 5-OH metabolized by CYP2C19 in the human liver. In addition, the plasma concentrations of LS at 2 h after intake was significantly correlated with 6 β -OHC *in vivo*. These results suggested that lansoprazole can be a new probe drug for human liver CYP3A activity.